

“内膝眼”及“外膝眼”仿灸干预膝关节骨关节炎大鼠优效温度-波长参数研究

郭亚婷, 高俊虹, 刘群, 辛娟娟, 赵玉雪, 闫文茜, 陆嘉盈, 江天云
(中国中医科学院针灸研究所, 北京 100700)

【摘要】 目的:明确“内膝眼”和“外膝眼”仿灸干预改善膝关节骨关节炎(KOA)大鼠的温度及红外辐射波长优效参数。方法:将雄性SD大鼠随机分为正常组、模型组、温和灸组 and 不同波长仿灸组,每组6只。大鼠膝关节腔内注射L-半胱氨酸和木瓜蛋白酶混合液制备KOA模型。通过红外辐射测量装置采集“内膝眼”与“外膝眼”的特征红外辐射波长。温和灸组分别于“内膝眼”与“外膝眼”单穴施加43℃艾条温和灸干预,仿灸组则分别施加温度43℃与不同波长(1 652、3 340、7 500 nm)参数组合的光热模拟刺激。分析大鼠步态空间、时间及动态参数,ELISA法定量评估血清抗炎因子白细胞介素-10(IL-10)含量,HE染色、Masson染色评估膝关节滑膜组织炎症反应和胶原化程度。结果:大鼠KOA病理状态下特征红外辐射波长均约为3 340 nm。与正常组相比,模型组步态空间、时间及动态参数均显著改变($P<0.001$),血清IL-10含量显著降低($P<0.05$),滑膜Krenn评分、胶原面积百分比均显著升高($P<0.000 1$)。与模型组相比,“内膝眼”与“外膝眼”温和灸组及仿灸组空间参数($P<0.001, P<0.01, P<0.05$)及动态参数($P<0.001, P<0.01$)均不同程度改善,“内膝眼”与“外膝眼”温和灸组、1 652 nm仿灸组、3 340 nm仿灸组时间参数不同程度改善($P<0.01, P<0.05, P<0.001$),其中温和灸组及3 340 nm仿灸组的改善效果较其他参数仿灸组更优($P<0.01, P<0.001, P<0.05$)。与模型组相比,“内膝眼”温和灸组及“内膝眼”“外膝眼”3 340 nm仿灸组大鼠血清IL-10含量显著升高($P<0.05, P<0.000 1, P<0.001$),与其他参数仿灸组相比,“内膝眼”3 340 nm仿灸组血清IL-10含量显著升高($P<0.000 1, P<0.01$)。与模型组相比,“内膝眼”与“外膝眼”温和灸及3 340 nm仿灸组大鼠滑膜Krenn评分及胶原面积百分比均显著降低($P<0.01, P<0.000 1, P<0.05, P<0.001$),且3 340 nm仿灸组效果更优($P<0.05$)。结论:大鼠“内膝眼”与“外膝眼”施加43℃结合3 340 nm参数组合的灸疗干预均可显著改善KOA大鼠步态功能并抑制炎症反应,且“内膝眼”与“外膝眼”的优效参数组合一致。其增效效应可能与灸疗产生的特定波长红外辐射与KOA病理状态下大鼠穴位自发红外辐射所形成的腧穴-灸疗红外辐射共振效应有关。

【关键词】 仿灸;膝关节骨关节炎;灸温;红外辐射波长;共振效应

Study on optimal temperature-wavelength parameters of moxibustion simulator intervention at “Neixiyan” (EX-LE4) and “Waixiyan” (ST35) acupoints for knee osteoarthritis in rats

GUO Ya-ting, GAO Jun-hong, LIU Qun, XIN Juan-juan, ZHAO Yu-xue, YAN Wen-xi, LU Jia-ying, JIANG Tian-yun
(Institute of Acupuncture and Moxibustion, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China)

【ABSTRACT】 Objective To identify the optimal temperature and infrared radiation wavelength parameters of moxibustion simulator intervention at “Neixiyan” (EX-LE4) and “Waixiyan” (ST35) acupoints for ameliorating knee osteoarthritis (KOA) in rats. **Methods** Male Sprague-Dawley (SD) rats were randomly assigned to a normal group, a model group, EX-LE4 or ST35 mild moxibustion groups, and EX-LE4 or ST35 moxibustion simulator groups with different wavelengths, with 6 rats in each group. The KOA model was established by intra-articular injection of a mixed

【DOI】10.13702/j.1000-0607.20251131

引用格式:郭亚婷,高俊虹,刘群,等.“内膝眼”及“外膝眼”仿灸干预膝关节骨关节炎大鼠优效温度-波长参数研究[J].针刺研究,2026,51(5):602-613.

项目来源:国家自然科学基金项目(No.82305405);中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金项目(No.ZZ16-XRZ-076,ZZ17-YQ-028,ZZ-YC2023004)

通信作者:江天云,E-mail: tianyunjiang@hotmail.com

solution of L-cysteine and papain into the left knee joint cavity. An infrared radiation measurement device was used to collect the characteristic infrared radiation wavelengths of EX-LE4 and ST35 acupoints. The mild moxibustion group received mild moxibustion intervention at EX-LE4 and ST35 acupoints separately with a moxa stick at 43 °C, while the moxibustion simulator groups were treated with photothermal simulated stimulation with a fixed temperature of 43 °C combined with different wavelengths (1 652, 3 340, and 7 500 nm). The spatial, temporal and dynamic parameters of rat gait were analyzed. ELISA was performed to quantitatively determine the serum content of interleukin-10 (IL-10), an anti-inflammatory cytokine. HE staining and Masson staining were conducted to evaluate the inflammatory response and collagenization degree of synovial tissue of the knee joints. **Results** The characteristic infrared radiation wavelength of the acupoints was approximately 3 340 nm in rats under the pathological state of KOA. Compared with the normal group, the model group showed significant alterations in gait spatial, temporal and dynamic parameters ($P<0.001$), a marked decrease in serum IL-10 level ($P<0.05$), as well as significant elevations in synovial Krenn score and collagen area percentage ($P<0.000 1$). In comparison with the model group, the mild moxibustion group and moxibustion simulator groups at both EX-LE4 and ST35 acupoints exhibited varying degrees of improvement in gait spatial parameters ($P<0.001$, $P<0.01$, $P<0.05$) and dynamic parameters ($P<0.001$, $P<0.01$). The mild moxibustion group, 1 652 nm moxibustion simulator group and 3 340 nm moxibustion simulator group at both acupoints also achieved improvements in gait temporal parameters ($P<0.01$, $P<0.05$, $P<0.001$), with the mild moxibustion group and 3 340 nm moxibustion simulator group showing superior ameliorative effects compared with the moxibustion simulator groups with other parameters ($P<0.01$, $P<0.001$, $P<0.05$). Compared with the model group, the EX-LE4 mild moxibustion group, EX-LE4 3 340 nm moxibustion simulator group and ST35 3 340 nm moxibustion simulator group presented a significant increase in serum IL-10 contents ($P<0.05$, $P<0.000 1$, $P<0.001$). Moreover, the serum IL-10 contents in the EX-LE4 3 340 nm moxibustion simulator group was significantly higher than those in the moxibustion simulator groups with other parameters ($P<0.000 1$, $P<0.01$). In contrast to the model group, the mild moxibustion groups and 3 340 nm moxibustion simulator groups at both acupoints displayed significant reductions in synovial Krenn score and collagen area percentage ($P<0.01$, $P<0.000 1$, $P<0.05$, $P<0.001$), with the 3 340 nm moxibustion simulator group yielding the best therapeutic outcome ($P<0.05$). **Conclusion** Moxibustion intervention with the parameter combination of 43 °C and 3 340 nm at EX-LE4 and ST35 acupoints can significantly improve gait function and suppress inflammatory response in KOA rats, with consistent optimal parameter combinations for both acupoints. The synergistic effect may be attributed to the acupoint-moxibustion infrared radiation resonance effect formed between the specific wavelength infrared radiation generated by moxibustion and the spontaneous infrared radiation emitted by the acupoints of rats under KOA pathological conditions.

【KEYWORDS】 Moxibustion simulator intervention; Knee osteoarthritis; Moxibustion temperature; Infrared radiation wavelength; Resonance effect

膝关节骨关节炎(KOA)是一种以关节软骨退行性变和骨赘形成为主要病理特征的慢性关节疾病,临床常表现为膝关节疼痛、僵硬、活动受限及功能障碍,多发于中老年人群^[1-2]。作为全球范围内导致疼痛和残疾的主要疾病之一^[3-4],KOA的患病率在人口老龄化加剧的背景下预计未来10年仍将持续上升^[5]。KOA病因不明、病理机制复杂,难以治愈,一旦发病会影响患者的生活质量,并有致残和致畸的风险^[6-7]。

艾灸作为中医外治法的重要组成部分,在KOA治疗中具有确切疗效,但其临床应用仍面临艾烟污染、操作标准化难、治疗参数量化不足等问题。近年来,仿灸装置通过模拟艾灸的热效应与红外辐射效应,部分克服了传统艾灸的局限,提升了治疗的

可控性与可重复性^[8-9]。灸疗效应的关键在于热效应与光辐射效应的协同作用^[10-12],其中红外辐射波长与腧穴自发辐射波长的匹配可能引发“共振效应”^[13],从而增强疗效^[14]。现有研究表明,灸疗温度在43~45 °C范围内的临床疗效较为显著^[15],同时,艾条燃烧产生的红外辐射强度峰值分布于3 500 nm附近^[16],提示上述温度和波长可能成为优效干预参数。然而,目前尚缺乏系统研究验证温度与波长参数组合对KOA干预效果的影响,亦不明确灸疗红外辐射与腧穴自发红外辐射之间是否存在共振效应。

因此,本研究旨在构建KOA大鼠模型,比较不同温度与红外波长仿灸干预对步态功能、白细胞介素-10(IL-10)水平及滑膜病理变化的影响,明确“膝

眼”的优效灸疗参数组合,验证“腧穴-灸疗红外辐射共振”假说,为灸疗参数标准化提供实验依据。

1 材料与方 法

1.1 实验动物及分组

6周龄 SPF 级雄性 SD 大鼠 60 只,体质量 180~200 g,由北京维通利华实验动物技术有限公司提供[实验动物生产许可证号:SCXK(京)2019-0010]。所有大鼠饲养于中国中医科学院针灸研究所,室温控制在 20~25℃,相对湿度 40%~60%,采用 12 h/12 h 的明暗交替循环。大鼠在实验操作过程中严格遵守国家标准《实验动物福利伦理审查指南》(GB/T 35892—2018)要求,并经中国中医科学院针灸研究所伦理委员会审查批准(批件号:中科针伦 D2024-01-26-04)。大鼠随机分为正常组、模型组、温和灸组和仿灸组,每组各 6 只。

1.2 主要试剂与仪器

0.9% 氯化钠注射液、75% 乙醇溶液(山东齐鲁),乌拉坦(美国 Sigma),无水乙醇、二甲苯(上海国药),4% 多聚甲醛溶液、木瓜蛋白酶、L-半胱氨酸(北京鼎国),异氟烷(深圳瑞沃德),IL-10 ELISA 检测试剂盒(北京索莱宝),苏木精-伊红(HE)染液(上海慧蓝),Masson 染液(上海茹创),5 年陈蕲艾条(4 mm×120 mm,南阳上官氏)。

定位 PCB 夹(宁波 JOYWES),小动物呼吸麻醉机(美国 Matrix),小动物运动功能评价(动物步态分析)系统、CatWalk XT 软件 10.5(荷兰 Noldus),PT100 温度控制器(厦门安东),PT100 电阻片(德国兹天),调压模块(杭州龙科),近红外带通滤光片、中远红外带通滤光片(北京久色),远红外带通滤光片(上海朴瑞多),超低温冰箱(美国 Thermo Scientific),高速冷冻离心机(德国 Hettich),全波长扫描式多功能酶标仪(德国 CLARIOstar Plus),病理切片机(上海徕卡),正置光学显微镜、成像系统(日本 Nikon),扫描仪(匈牙利 3D histech),红外光电传感器(美国 Infrared),斩波器(美国 Thorlabs),锁相放大器(成都康威)。

1.3 造模方法

采用木瓜蛋白酶膝关节腔注射法建立 KOA 大鼠模型^[17]:将浓度为 0.03 mol/L 的 L-半胱氨酸溶液与 0.05 g/mL 的木瓜蛋白酶溶液按体积比 1:2 充分混合,配制木瓜蛋白酶终浓度为 5% 的混合造模液。分别于实验第 1、4、7 天进行 3 次左膝关节腔注射。大鼠于异氟烷呼吸麻醉状态下,待意识消失、痛觉

反射减弱后,将其固定于操作平台。使大鼠左膝关节屈曲约 90°,确定进针点为髌骨下缘、髌韧带外侧。选用一次性无菌注射器,调整针头方向与胫骨平台平行,并向内侧倾斜 45°缓慢穿刺。穿刺过程中避开关节软骨及胫骨平台,当针头出现明显落空感时,说明已进入膝关节腔,稍退针后随即缓慢注入 0.15 mL 混合造模液,注射完成后轻柔屈伸大鼠膝关节 10~15 s,使造模液在大鼠关节腔内均匀分布。造模周期为 14 d,并于周期结束即日观察大鼠行为学变化及膝关节局部状态。若大鼠行走时出现跛行,关节周围明显肿胀,膝关节活动范围受限,触碰膝关节时大鼠出现疼痛性收缩,或自主活动时主动规避患侧肢体负重等骨关节炎典型症状时,则判定 KOA 模型制备成功。

1.4 干预方法

正常组和模型组大鼠维持常规饲养环境,不予任何干预操作。

温和灸组:大鼠在异氟烷吸入麻醉状态下,将左膝关节固定于屈曲 120°位置,使穴区充分暴露,分别选取造模侧“内膝眼”“外膝眼”(为与“内膝眼”对应,本文“犊鼻”均写作“外膝眼”)进行单穴艾灸干预,定位参考《实验动物常用穴位名称与定位 第 2 部分:大鼠》^[18]。将温度传感器贴片固定于大鼠穴区,并将燃烧充分的细艾条固定于定位夹,使艾条燃烧端正对大鼠穴位皮肤上 5~8 mm 处进行施灸操作,每 2~3 min 弹除艾灰,并及时调整施灸距离,使大鼠施灸部位的皮肤温度稳定维持在(43±0.5)℃。单次施灸时间为 10 min,隔日 1 次,共干预 7 次,施灸过程中通过 PT100 铂电阻温度传感器实时显示并监测皮肤温度。

仿灸组:以 43℃ 为基准温度,分设 1 652 nm 仿灸组、3 340 nm 仿灸组、7 500 nm 仿灸组,通过组合不同波长参数构建仿灸干预方案。仿灸干预操作同温和灸组,使用自行搭建的红外辐射仿灸装置,该装置以热电阻加热模块为核心,通过更换不同中心波长的窄带通红外滤光片[近红外:(1 652±2)nm、中远红外:(3 340±50)nm、远红外:(7 500±500)nm],实现特定波长红外辐射的输出,进而对两穴施加波长不同的温热刺激。装置输出端直径为 4 mm,使用前与大鼠穴位对齐并固定于定位夹上,确保每次红外辐射精准作用于单一穴区局部。各亚组均使穴位皮肤温度稳定维持在(43±0.5)℃,干预时间和频率与温和灸组一致。温和灸组与仿灸组干预及穴区皮肤温度监测方法见图 1。



温和灸组干预方法及穴区皮肤温度监测

仿灸组干预方法及穴区皮肤温度监测

图1 温和灸组与仿灸组干预方法及穴区皮肤温度监测

Fig. 1 Intervention and skin temperature monitoring in mild moxibustion and simulated moxibustion groups

1.5 观察指标及检测方法

穴区红外辐射光谱检测与归一化处理:大鼠KOA模型制备成功即日,分别测定正常与KOA大鼠穴区在特定波段内的自发红外辐射光谱。具体操作如下,使用自行搭建的红外辐射测量装置分别采集大鼠“内膝眼”与“外膝眼”穴区(以穴位为中心,直径约1 cm的区域)红外辐射光谱,其部件包括红外光电传感器、斩波器及锁相放大器。采集过程中保持装置探测端与穴位皮肤的垂直距离固定,并将环境温度控制在 $(25\pm 1)^{\circ}\text{C}$,相对湿度维持在40%~60%,以排除环境中红外辐射的干扰。每组大鼠采集3条光谱数据,取平均值作为该组大鼠“内膝眼”与“外膝眼”的平均红外辐射光谱曲线,并采用自身强度归一化法消除基础辐射差异的干扰。将每条红外辐射光谱曲线的每个波长对应的辐射强度值,分别除以该曲线的自身平均强度,得到归一化后的红外辐射光谱曲线^[19]。计算公式如下: $I_{\text{norm}}(\lambda) = I(\lambda) / \bar{I}$,式中 $I_{\text{norm}}(\lambda)$ 为归一化后波长 λ 处的红外辐射强度, $I(\lambda)$ 为原始光谱中波长 λ 处的红外辐射强度, \bar{I} 为该原始光谱曲线的自身平均强度。自身平均强度为单条红外辐射光谱曲线在检测波长范围内(2 500~7 500 nm)相应检测点的强度平均值,该参数与大鼠穴区皮肤温度呈正相关,可间接反映热辐射水平。

大鼠Catwalk步态行为学检测:在造模前、模型制备成功后及每次干预后1 d,分别对正常组、模型组、温和灸组及仿灸各组大鼠进行Catwalk步态数据采集。大鼠步态检测在避光、安静的专用实验空间内进行,环境温度维持在 $(25\pm 1)^{\circ}\text{C}$,以最大程度减少外界干扰对大鼠行为的影响。检测前清洁玻璃跑道表面,确保无残留污物。正式采集时,将大鼠置于跑道起点,待其适应环境后,大鼠自主、匀速

通过跑道。使用采集系统内置荧光成像技术捕捉大鼠爪印动态信息,每只大鼠采集3个完整且符合要求的步态周期,最终取其算术平均值用于后续分析。为消除大鼠体质量差异及个体运动习惯对步态参数的影响,对相关参数进行标准归一化处理:后肢不对称性指标(包括占空比、站立时间、摆动时间、步长、前后肢爪印面积比及前后肢负重比)采用“左右肢比值”进行归一化(即患侧参数/健侧参数);步频参数则基于平均步态周期进行归一化,计算公式如下:单侧步频=60÷单侧平均步态周期,平均后肢步频=(左后肢步频+右后肢步频)÷2,左后肢归一化步频=左后肢步频÷平均后肢步频。所采集的步态参数按时间、空间与动态特征分为3类。见表1。

ELISA法检测大鼠血清中IL-10的含量:每组大鼠于末次步态采集后,经腹腔注射20%乌拉坦溶液(0.5 mL/100 g)进行麻醉,随后采用腹主动脉采血法收集全血样本。4℃离心10 min,分离上层血清,样本分装后置于-86℃超低温冰箱中保存待测。检测时,首先将试剂盒及血清样本平衡至室温,标准品与样本经4℃、1 000×g离心处理后,使用稀释液将标准品倍比稀释为8个浓度梯度。酶标板内依次加入标准品及样本(均设复孔),依次进行37℃孵育90 min、生物素化抗体孵育60 min、洗板3次、HRP酶结合物孵育30 min、洗板5次,再加入TMB底物溶液避光显色15~30 min,最后每孔加入50 μL终止液以终止反应。立即用酶标仪在450 nm波长处测量各孔的吸光度值,并根据标准曲线计算IL-10含量。

HE及Masson染色法观察大鼠滑膜组织病理变化:大鼠腹主动脉取血后,经腹腔注射麻醉并灌流,取膝关节滑膜组织,固定于4%多聚甲醛溶液

表1 大鼠步态参数分类及定义

Table 1 Classification and definition of gait parameters in rats

	参数名称	定义
时间参数	步频	反映爪部运动时间分配
	占空比	单爪站立时间占自身步态周期的百分比
	站立时间	单爪与跑道接触的持续时间
空间参数	摆动时间	单爪离开跑道至下次着地的时间间隔
	步长	同一后爪连续两次着地的行进方向直线距离
动态参数	爪印面积	单爪单次步态周期接触跑道的完整爪印面积
	负重	单爪最大接触时爪印区域平均荧光亮度

内,经石蜡包埋后制备成5 μm厚的切片。切片分别进行HE与Masson染色,在光镜下观察膝关节滑膜组织形态学变化,并进行Krenn滑膜炎性反应评分及胶原纤维化面积的计算。Krenn评分总分为0~9分,分值越高表示滑膜炎性反应程度越严重,该评分基于滑膜衬里层增厚、炎性细胞浸润和滑膜下层增生3项病理特征,每项单独计分后求和得出总分^[20]。采用ImageJ图像分析软件定量评估滑膜组织胶原纤维化程度,计算蓝色胶原纤维面积百分比,胶原纤维化面积百分比(%)=(蓝色胶原纤维面积÷视野内组织总面积)×100%。实验流程见图2。

1.6 统计学处理

本实验所有数据采用SPSS27.0、Graphpad Prism 9.5软件进行统计分析及图片绘制。计量资料先进行正态性和方差齐性检验。满足正态分布的数据采用均数±标准误($\bar{x} \pm s_x$)表示,行为学数据采用重复测量方差分析,多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较使用Tukey检验。以 $P \leq 0.05$ 为差异有统计学意义的标准。

2 结果

2.1 大鼠生理和病理状态下“膝眼”的自发红外辐射光谱

红外辐射光谱检测结果显示,正常生理状态下大鼠“内膝眼”与“外膝眼”的归一化红外辐射光谱均在7 360 nm附近存在辐射峰,而KOA病理状态

下大鼠“内膝眼”与“外膝眼”在3 340 nm附近出现辐射峰。见图3。

2.2 各组大鼠步态行为学组合参数的比较

2.2.1 各组大鼠步态时间参数的比较

与正常组相比,模型组大鼠的步态时间参数受到显著影响,表现为步频、占空比、站立时间的减少及摆动时间的增加($P < 0.001$)。与模型组相比,“内膝眼”与“外膝眼”温和灸组、1 652 nm仿灸组、3 340 nm仿灸组大鼠步态时间参数分别有不同程度的改善($P < 0.01, P < 0.05, P < 0.001$)。“内膝眼”各干预组之间的结果比较显示,温和灸组的占空比高于1 652 nm仿灸组($P < 0.01$)与7 500 nm仿灸组($P < 0.001$),3 340 nm仿灸组的占空比同样高于此两个仿灸组($P < 0.001$);温和灸组的站立时间长于7 500 nm仿灸组($P < 0.05$),且摆动时间更短($P < 0.05$);3 340 nm仿灸组的站立时间高于1 652 nm仿灸组($P < 0.05$)及7 500 nm仿灸组($P < 0.01$),同时其摆动时间显著低于此两仿灸组($P < 0.05, P < 0.001$)。“外膝眼”各干预组之间的结果比较显示,3 340 nm仿灸组的占空比与站立时间均高于7 500 nm仿灸组($P < 0.01, P < 0.05$);7 500 nm仿灸组的摆动时间显著高于温和灸组($P < 0.05$)。见图4。

2.2.2 步态空间参数的比较

与正常组相比,模型组大鼠的步态空间参数发生显著改变,表现为步长的缩短($P < 0.001$)、后肢

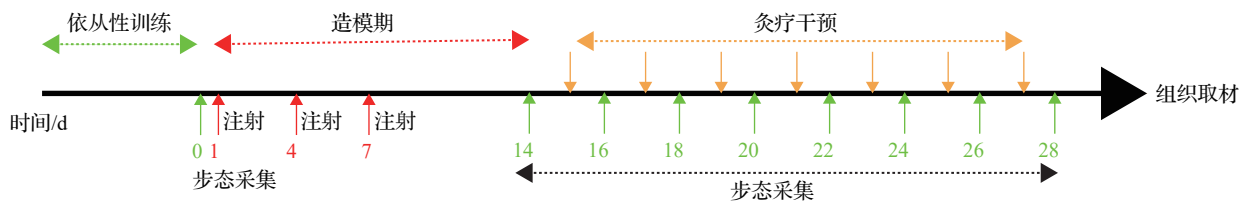


图2 实验流程图

Fig. 2 Experiment flow chart

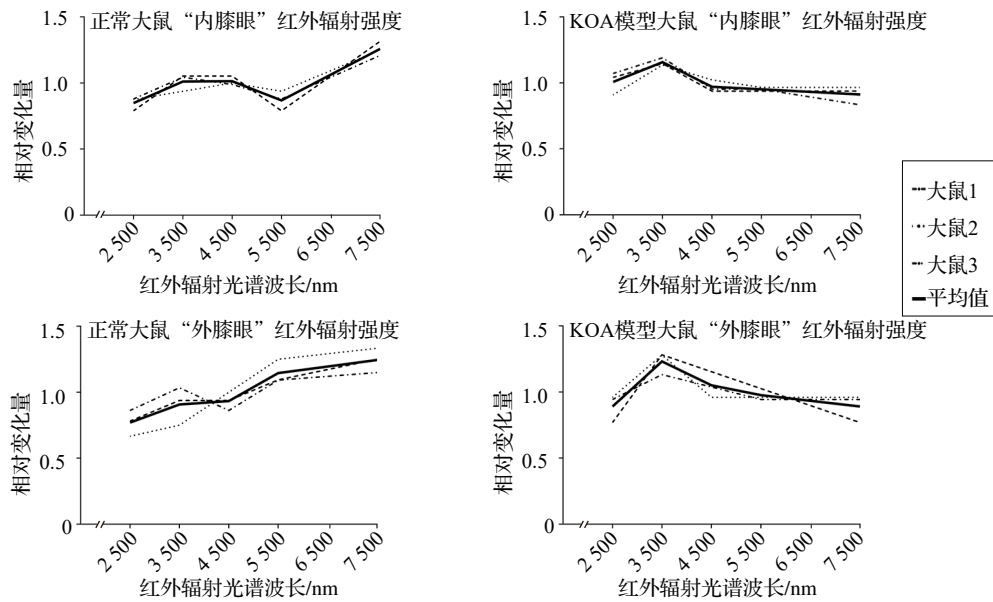


图3 正常与KOA大鼠“内膝眼”与“外膝眼”归一化红外辐射光谱曲线(3只鼠/组)

Fig. 3 Normalised infrared radiation spectral curves of the “Neixiyan”(EX-LE4) and “Waixiyan”(ST35) of rats in normal and KOA groups (3 rats/group)

爪印面积比的减少($P<0.001$)及前肢爪印面积比的增加($P<0.001$)。与模型组相比,“内膝眼”与“外膝眼”各干预组大鼠的步态空间参数同样分别有不同程度的改善($P<0.001, P<0.01, P<0.05$)。“内膝眼”各干预组之间的比较结果显示,3 340 nm 仿灸组的后肢爪印面积比显著高于7 500 nm 仿灸组($P<0.05$),同时前肢爪印面积比显著低于7 500 nm 仿灸组($P<0.01$)。“外膝眼”各干预组之间差异无统计学意义。见图5。

2.2.3 步态动态参数的比较

与正常组相比,模型组大鼠的步态动态参数发生显著变化,表现为后肢负重比的显著减少($P<0.001$)及前肢负重比的显著增加($P<0.001$)。与模型组相比,“内膝眼”与“外膝眼”各干预组大鼠的步态动态参数亦分别有不同程度的改善($P<0.001, P<0.01$)。“内膝眼”各干预组之间的结果比较显示,温和灸组的后肢负重比显著高于7 500 nm 仿灸组($P<0.05$);3 340 nm 组的后肢负重比显著高于1 652 nm 仿灸组与7 500 nm 仿灸组($P<0.01$),而其前肢负重比显著低于7 500 nm 仿灸组($P<0.05$)。“外膝眼”各干预组之间的结果比较显示,3 340 nm 组的后肢负重比显著高于1 652 nm 仿灸组与7 500 nm 仿灸组($P<0.05, P<0.01$)的同时,其前肢负重比亦显著低于1 652 nm 仿灸组与7 500 nm 仿灸组($P<0.01, P<0.001$);而温和灸组的前肢负重比亦显著低于1 652 nm 仿灸组与7 500 nm 仿灸组($P<0.05,$

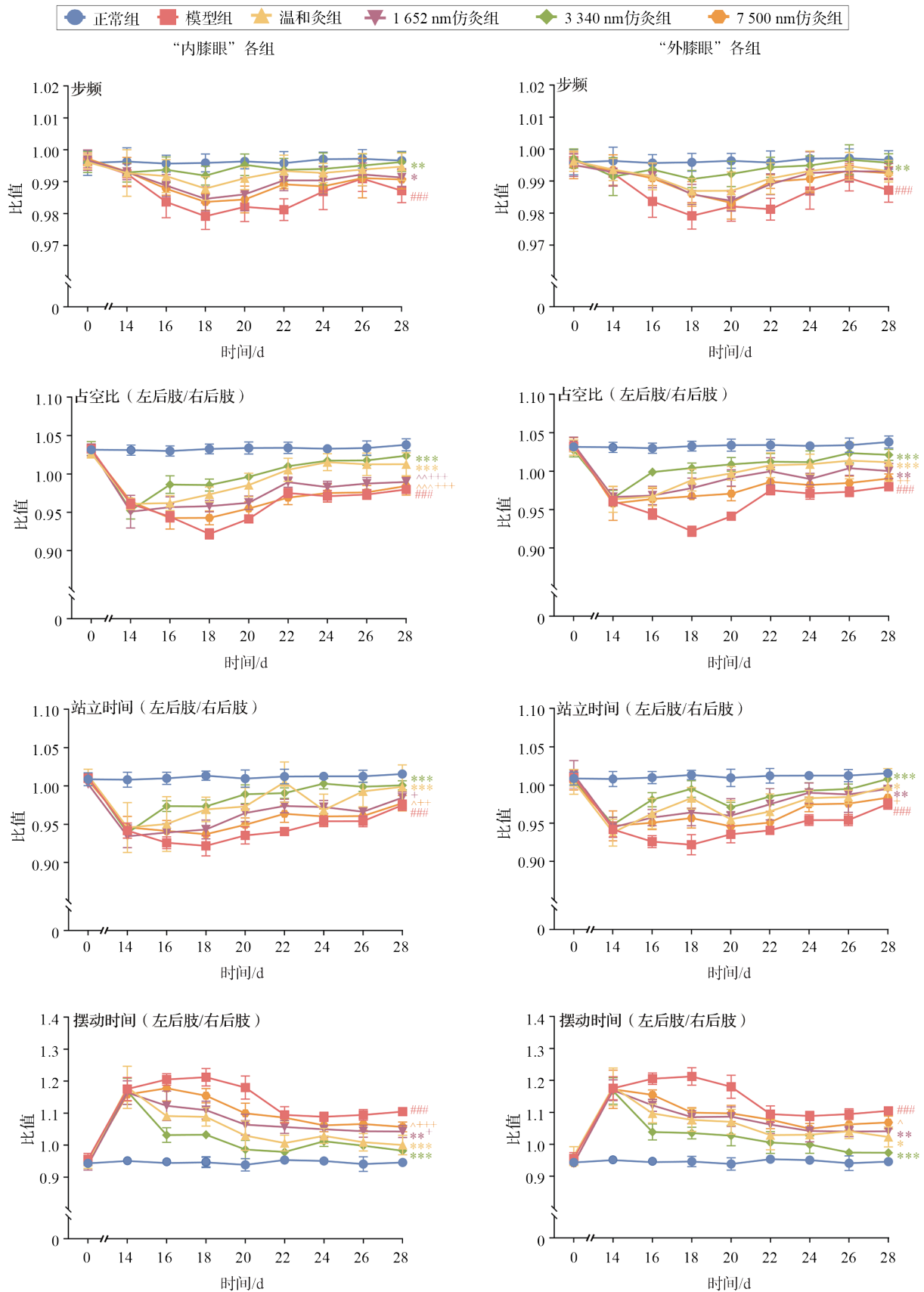
$P<0.01$)。见图6。

2.3 各组大鼠血清中IL-10含量的比较

与正常组相比,模型组大鼠血清中IL-10含量显著降低($P<0.01, P<0.05$)。与模型组比较,“内膝眼”温和灸干预组、3 340 nm 仿灸组及“外膝眼”3 340 nm 仿灸组的IL-10含量均显著升高($P<0.05, P<0.000 1, P<0.001$)。不同干预方式间的比较显示,“内膝眼”温和灸组的IL-10含量显著高于1 652 nm 仿灸组($P<0.01$),但低于3 340 nm 仿灸组($P<0.05$);“外膝眼”温和灸组IL-10含量显著高于7 500 nm 仿灸组($P<0.01$);“内膝眼”与“外膝眼”3 340 nm 仿灸组的IL-10含量均显著高于同穴1 652 nm 仿灸组($P<0.000 1, P<0.001$)与7 500 nm 仿灸组($P<0.000 1, P<0.01$)。见图7。

2.4 温和灸与3 340 nm 仿灸干预对大鼠滑膜组织炎症反应程度的影响

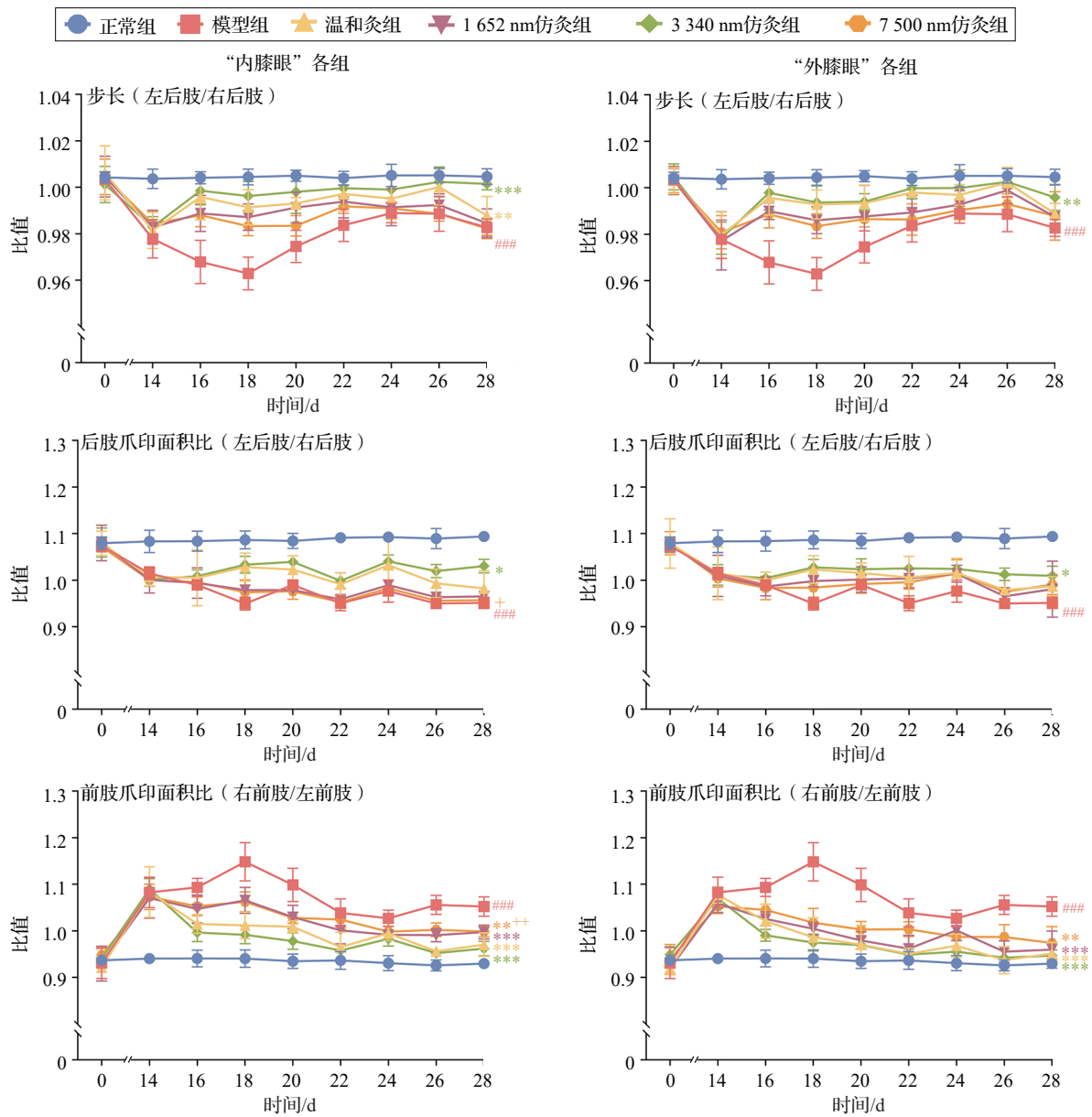
HE染色结果显示,正常组大鼠滑膜表面光滑,内膜层细胞排列整齐,层次有序,无组织增生及炎性细胞浸润。模型组大鼠滑膜组织呈现充血水肿状态,细胞排列致密,大量表层滑膜细胞迁移至内膜下层并伴有明显增生肥大,可见多处血管翳形成,炎性细胞浸润情况明显。与模型组相比,4个干预组(“内膝眼”温和灸组、“内膝眼”3 340 nm 仿灸组、“外膝眼”温和灸组、“外膝眼”3 340 nm 仿灸组)大鼠滑膜表面相对平整,细胞排列较规则,增生程度及炎性细胞浸润情况均有所改善。与正常组相



注:与正常组比较,### $P < 0.001$;与模型组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$,*** $P < 0.001$;与温和灸组比较,^ $P < 0.05$,^^ $P < 0.01$,^^^ $P < 0.001$;与3340 nm仿灸组比较,+ $P < 0.05$,++ $P < 0.01$,+++ $P < 0.001$ 。

图4 各组大鼠步态时间参数比较($\bar{x} \pm s_x$, 6只鼠/组)

Fig. 4 Comparison of gait time parameters of rats in the 10 groups ($\bar{x} \pm s_x$, 6 rats/group)



注:与正常组比较,### $P < 0.001$;与模型组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$,*** $P < 0.001$;与3 340 nm 仿灸组比较,+ $P < 0.05$,++ $P < 0.01$ 。

图5 各组大鼠步态空间参数比较($\bar{x} \pm s_x$, 6只鼠/组)

Fig. 5 Comparison of gait spatial parameters of rats in the 10 groups ($\bar{x} \pm s_x$, 6 rats/group)

比,模型组大鼠滑膜组织Krenn评分显著升高($P < 0.000 1$);与模型组相比,4个干预组大鼠滑膜组织Krenn评分均显著降低($P < 0.01, P < 0.000 1, P < 0.05, P < 0.001$);与同穴温和灸组相比,“内膝眼”与“外膝眼”3 340 nm 仿灸组的Krenn评分均显著降低($P < 0.05$)。见图8。

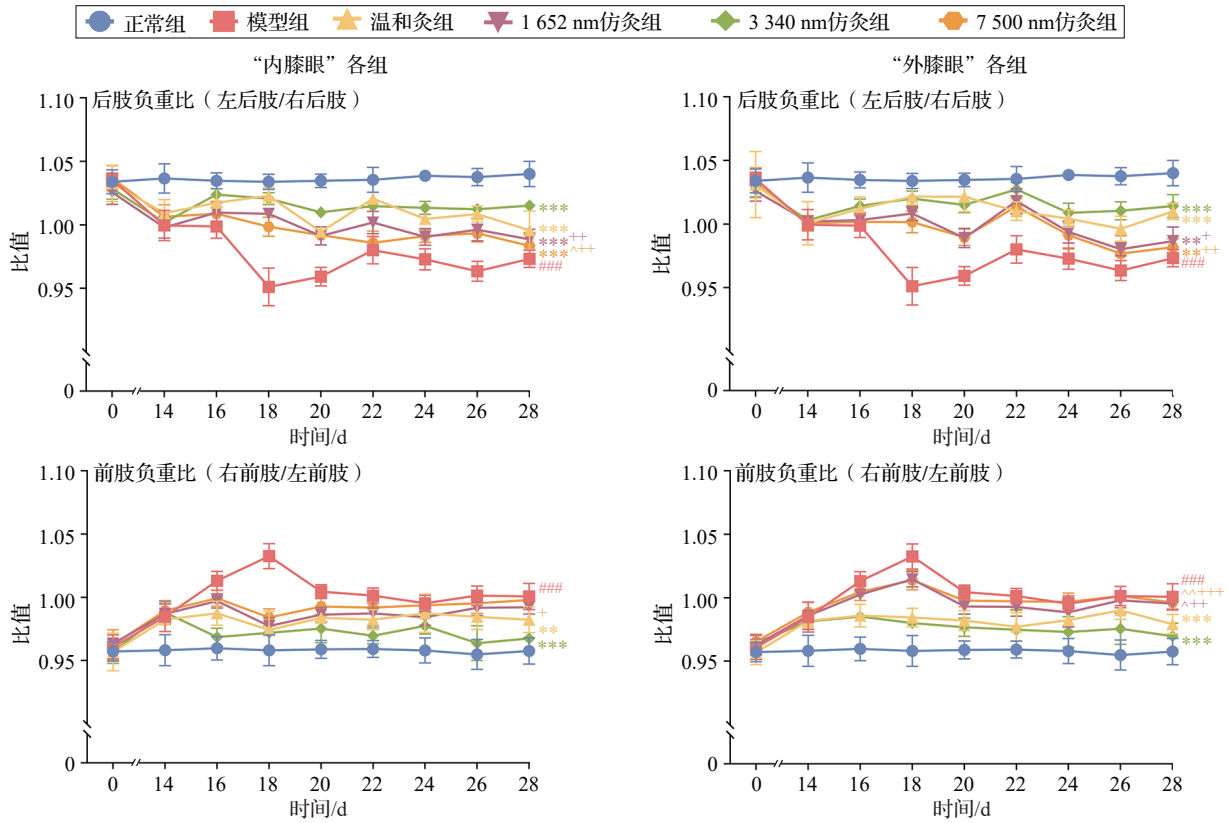
2.5 温和灸与3 340 nm 仿灸干预对大鼠滑膜组织胶原化程度的影响

Masson染色结果显示,正常组大鼠滑膜组织胶原纤维排列整齐,未见胶原纤维增生情况。模型组大鼠滑膜组织胶原纤维排列紊乱,可见大量胶原纤维沉积增生,提示存在滑膜纤维化。与模

型组相比,4个干预组大鼠滑膜纤维化程度有所改善。与正常组相比,模型组大鼠滑膜组织胶原化面积比显著增加($P < 0.000 1$);与模型组相比,4个干预组大鼠滑膜组织胶原化面积比显著减少($P < 0.05, P < 0.001, P < 0.01$);与同穴温和灸组相比,“内膝眼”与“外膝眼”3 340 nm 仿灸组的胶原化面积比同样显著减少($P < 0.05$)。见图9。

3 讨论

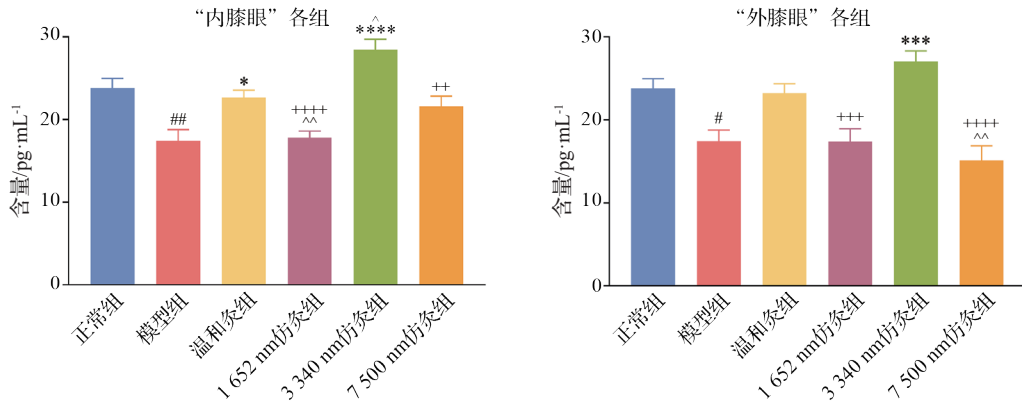
内膝眼与外膝眼是针灸治疗KOA的高频选用腧穴^[21]。现有研究表明,KOA的腧穴配伍中,内膝眼使用频率最高,为核心腧穴,外膝眼次之^[22]。本研



注:与正常组比较,### $P < 0.001$;与模型组比较,** $P < 0.01$,*** $P < 0.001$;与温和灸组比较, $P < 0.05$, $^{\sim}P < 0.01$;与3 340 nm 仿灸组比较, $^+P < 0.05$, $^{++}P < 0.01$, $^{+++}P < 0.001$ 。

图6 各组大鼠步态动态参数比较($\bar{x} \pm s_x$, 6只鼠/组)

Fig. 6 Comparison of gait dynamic parameters of rats in the 10 groups ($\bar{x} \pm s_x$, 6 rats/group)



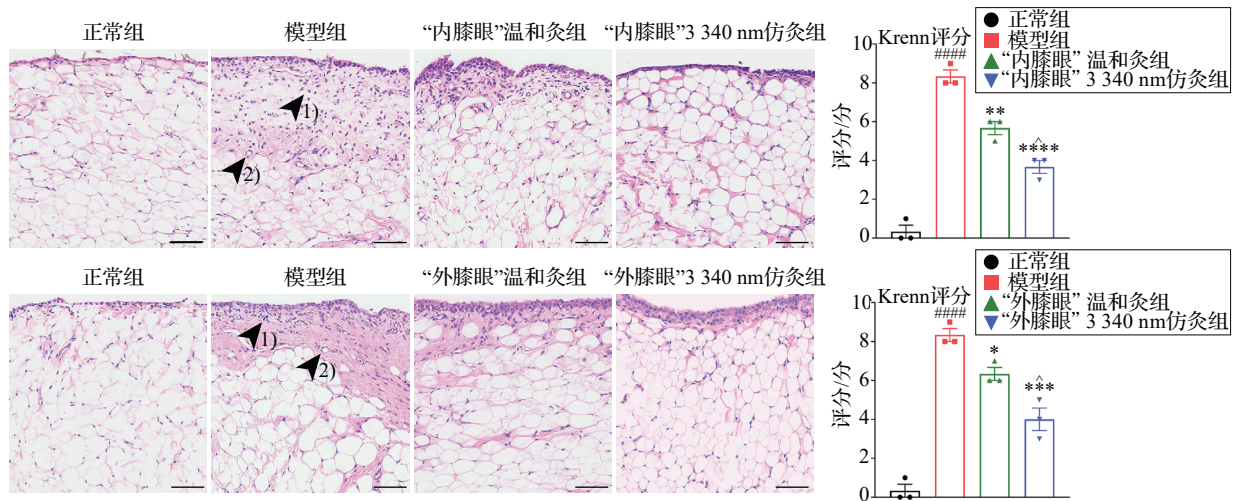
注:IL-10为白细胞介素-10。与正常组比较, $^{\#}P < 0.05$, $^{\#\#}P < 0.01$;与模型组比较, $^*P < 0.05$, $^{***}P < 0.001$, $^{****}P < 0.0001$;与温和灸组比较, $P < 0.05$, $^{\sim}P < 0.01$;与3 340 nm 仿灸组比较, $^{++}P < 0.01$, $^{+++}P < 0.001$, $^{++++}P < 0.0001$ 。

图7 各组大鼠血清IL-10含量的比较($\bar{x} \pm s_x$, 6只鼠/组)

Fig. 7 Comparison of serum IL-10 levels of rats in the 10 groups ($\bar{x} \pm s_x$, 6 rats/group)

究以木瓜蛋白酶诱导的KOA模型大鼠为观察对象,基于温和灸波长参数,通过测定生理与病理状态下“内膝眼”“外膝眼”特征波长,并结合步态、分子与组织病理分析,系统评估不同参数组合的效应差异,筛选并明确仿灸干预“内膝眼”“外膝眼”改善KOA的优效参数。结果表明,两穴的优效灸疗参数均为43℃结合3 340 nm波长。

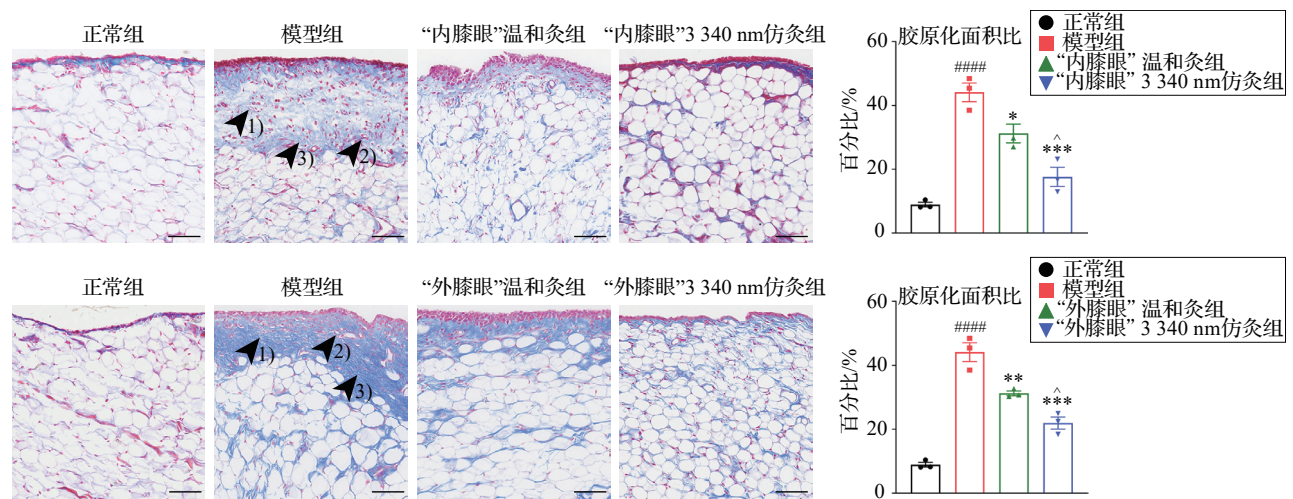
热效应和光辐射效应是影响灸疗效应的重要因素^[23-24]。既往研究^[25-26]已证实,灸疗红外辐射与穴位红外辐射之间可能存在共振效应,但尚缺乏系统性实验验证。43℃是诱导伤害性热刺激与初始灸感的临界温度,也是激活辣椒素受体的起始阈值^[27-28]。基于此,本研究将43℃设为基准温度,系统评估其与不同波长组合的仿灸效应。光谱研究显



注:标尺=50 μm。黑色箭头¹⁾示炎性细胞浸润,箭头²⁾示血管翳形成。与正常组比较,#### $P<0.0001$;与模型组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$,*** $P<0.001$,**** $P<0.0001$;与温和灸组比较,^ $P<0.05$ 。

图8 各组大鼠滑膜炎性程度比较(HE染色, $\bar{x}\pm s_x$, 3只鼠/组)

Fig. 8 Comparison of synovial inflammation of rats in the 6 groups (HE staining, $\bar{x}\pm s_x$, 3 rats/group)



注:标尺=50 μm。黑色箭头¹⁾示炎性细胞浸润,箭头²⁾示血管翳形成,箭头³⁾示胶原纤维增生。与正常组比较,#### $P<0.0001$;与模型组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$,*** $P<0.001$;与温和灸组比较,^ $P<0.05$ 。

图9 各组大鼠滑膜组织胶原化程度比较(Masson染色, $\bar{x}\pm s_x$, 3只鼠/组)

Fig. 9 Comparison of synovial collagenization of rats in the 6 groups (Masson staining, $\bar{x}\pm s_x$, 3 rats/group)

示,1 652 nm附近是艾灸在近红外波段达到最大辐射功率的特征峰值^[14]。穴位红外辐射光谱存在个体差异,归一化光谱是可靠的实验观测指标^[19]。本研究“内膝眼”“外膝眼”红外辐射检测结果显示,KOA导致其特征辐射峰向3 340 nm波段迁移,为后续干预波长的选择提供了数据基础。

灸疗仪干预“膝眼”治疗KOA已在临床广泛应用,现有研究已证实其疗效不劣于传统艾灸,且具有参数可控、操作规范等优势^[29]。本研究通过集成窄带通红外滤光片与PID温控系统,搭建了一种波长与灸疗温度可调的红外辐射仿灸装置。该装置

设计有效避免了传统温和灸及宽谱辐射的表皮能量蓄积与热损伤风险,使输出的中心波长范围基本固定,并通过将皮肤温度维持在43℃左右,实现了能量的稳定输出,为后续量效关系研究提供了技术基础。

KOA疼痛和功能障碍常表现为主动行走时的步态异常^[30]。不同于von Frey等诱发机械痛测量方式^[31],本研究通过采集大鼠自发行走时的时空与动态参数,构建步态功能评价体系^[32],以系统评估不同灸疗参数的改善效应。结果表明,与其他干预组相比,“内膝眼”温和灸与3 340 nm仿灸能显著改善步态时间与动态参数,从而缓解KOA疼痛并改善运

动功能;而相同干预作用于“外膝眼”仅优化动态参数。生物力学研究证实,膝关节内侧的高负荷^[33]导致KOA膝内侧的压痛感显著高于外侧^[34]。以上结果提示“内膝眼”优效干预调节步态疼痛参数特异性较高,可能从行为学层面为“腧穴主治特异性”及“多穴配伍”的针灸理论提供实验依据。然而现有行为学指标虽证实了两种干预的优效性,但尚不足以揭示其效应差异。

抗炎效应分析结果显示,KOA大鼠血清IL-10含量降低,提示其内源性抗炎反馈可能被激活。“内膝眼”温和灸与3 340 nm仿灸均能显著提升血清IL-10含量,且后者作用更显著。而“外膝眼”仅3 340 nm仿灸有显著抗炎效应。上述结果从血清细胞因子层面说明两穴3 340 nm仿灸干预的抗炎优势,且“内膝眼”可能对灸疗敏感性更高,其单穴抗炎效应优于“外膝眼”。上述结论与步态结果可能共同支持内侧穴位更优效的KOA选穴规律。

KOA疼痛与滑膜炎性反应高度相关^[35-36],炎性因子通过诱导外周敏化参与疼痛的发生。由此可见,抑制滑膜炎性反应是延缓KOA进展、减轻疼痛的关键。基于上述实验结果所筛选出“内膝眼”“外膝眼”的优效参数,本研究通过滑膜组织病理学分析,对温和灸及优效参数仿灸的效应机制进行了初步探讨。结果表明,3 340 nm仿灸效应更为显著,说明特定波长仿灸参数对KOA的显著改善效应可能在于有效抑制滑膜炎性反应和胶原纤维化。

综上,本研究明确了艾灸“内膝眼”“外膝眼”的优效参数,其波长与病理特征辐射的匹配支持共振假说,两穴解剖位置的邻近可能为共振效应提供了生理结构基础,但其具体作用机制仍需深入研究。本研究选取单穴为切入点,旨在明确特定穴位参数改善KOA的量效关系,并探讨不同穴位的优效参数是否不同,但尚未涉及临床多穴配伍应用,后续将在实验中增加穴位组合干预以进一步明确相关机制。

利益冲突 所有作者声明不存在利益冲突。

参考文献

- [1] MICHAEL J W, SCHLÜTER-BRUST K U, EYSEL P. The epidemiology, etiology, diagnosis, and treatment of osteoarthritis of the knee [J]. *Dtsch Arztebl Int*, 2010, 107(9): 152-162.
- [2] MINTARJO J A, POERWANTO E, TEDYANTO E H. Current non-surgical management of knee osteoarthritis [J]. *Cureus*, 2023; 15(6): e40966.
- [3] VOS T, LIM S S, ABBAFATI C, et al. Global burden of 369 diseases and injuries in 204 countries and territories, 1990-2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019 [J]. *Lancet*, 2020, 396(10258): 1204-1222.
- [4] AYRES D V M, UCHIYAMA S S T, PRATES A O, et al. The Knee-SCHOOL: a brief patient-centered multidisciplinary educational program for knee osteoarthritis [J]. *Front Med*, 2025, 11: 1497774.
- [5] KURTZ S, ONG K, LAU E, et al. Projections of primary and revision hip and knee arthroplasty in the United States from 2005 to 2030 [J]. *J Bone Jt Surg Am Vol*, 2007, 89(4): 780-785.
- [6] CHARLESWORTH J, FITZPATRICK J, PERERA N K P, et al. Osteoarthritis: a systematic review of long-term safety implications for osteoarthritis of the knee [J]. *BMC Musculoskelet Disord*, 2019, 20(1): 151.
- [7] GENG R Z, LI J Y, YU C, et al. Knee osteoarthritis: current status and research progress in treatment (Review) [J]. *Exp Ther Med*, 2023, 26(4): 481.
- [8] 李娜, 赵东亮, 陈皓宇. 一种基于热敏灸法的多功能灸疗机的设计与研制 [J]. *中国针灸*, 2023, 43(6): 721-726.
LI N, ZHAO D L, CHEN H Y. Design and development of a multifunctional moxibustion treatment machine based on heat-sensitive moxibustion therapy (in Chinese) [J]. *Chinese Acupuncture & Moxibustion*, 2023, 43(6): 721-726.
- [9] 胡子毅, 刘婉婷, 张恒毅, 等. 灸疗仪研究进展 [J]. *中国中医药现代远程教育*, 2024, 22(14): 143-146.
HU Z Y, LIU W T, ZHANG H Y, et al. Research progress of moxibustion therapy instrument (in Chinese) [J]. *Chinese Medicine Modern Distance Education of China*, 2024, 22(14): 143-146.
- [10] 刘云, 储浩然, 胡进. 艾灸疗法的机理研究探析 [J]. *针灸临床杂志*, 2022, 38(12): 10-14.
LIU Y, CHU H R, HU J. Exploration of mechanism research on moxibustion therapy (in Chinese) [J]. *Journal of Clinical Acupuncture and Moxibustion*, 2022, 38(12): 10-14.
- [11] 杨莉, 杨金生, 李亮, 等. 灸法作用机理的研究现状与分析 [J]. *光明中医*, 2010, 25(5): 900-901.
YANG L, YANG J S, LI L, et al. Research status and analysis of mechanism of moxibustion (in Chinese) [J]. *Guangming Journal of Chinese Medicine*, 2010, 25(5): 900-901.
- [12] 张承舜, 吕鹏, 唐勇, 等. 艾灸光效应研究进展及展望 [J]. *成都中医药大学学报*, 2016, 39(3): 1-4.
ZHANG C S, LÜ P, TANG Y, et al. The photo effects of moxibustion (in Chinese) [J]. *Journal of Chengdu University of Traditional Chinese Medicine*, 2016, 39(3): 1-4.
- [13] 杨华元, 胡追成. 艾灸的生物物理特性 [J]. *中国针灸*, 2009, 29(11): 897-899.
YANG H Y, HU Z C. Biophysical characteristics of moxibustion (in Chinese) [J]. *Chinese Acupuncture & Moxibustion*, 2009, 29(11): 897-899.
- [14] 杨华元, 肖元春, 刘堂义, 等. 隔物灸的近红外光谱辐射特性测定 [J]. *上海针灸杂志*, 2003, 22(9): 15-17.
YANG H Y, XIAO Y C, LIU T Y, et al. Determination of spectrum characteristic of near infrared radiated by indirect moxibustion (in Chinese) [J]. *Shanghai Journal of Acupuncture and Moxibustion*, 2003, 22(9): 15-17.
- [15] 邱吓花, 杨柳, 付杨华, 等. 基于灸温的灸法临床试验研究文献计量学分析 [J]. *医学信息*, 2022, 35(21): 16-21.
QIU X H, YANG L, FU Y H, et al. Bibliometric analysis of clinical trials of moxibustion based on moxibustion temperature (in Chinese) [J]. *Medical Information*, 2022, 35(21): 16-21.
- [16] 洪文学, 蔡建红, 景军. 艾灸的热辐射光谱特性研究 [J]. 应

- 用光学, 2004, 25(4): 1-3, 44.
HONG W X, CAI J H, JING J. A research on heat radiation spectrum characteristics of moxibustion therapy (in Chinese) [J]. *Journal of Applied Optics*, 2004, 25(4): 1-3, 44.
- [17] 孙建辉, 霍海如, 李小芹, 等. 不同产地、不同储存期灸材对膝骨关节炎的药效比较[J]. *中国中药杂志*, 2020, 45(17): 4065-4070.
SUN J H, HUO H R, LI X Q, et al. Comparison of therapeutic effect of moxibustion materials from different places and storage periods on knee osteoarthritis (in Chinese) [J]. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 2020, 45(17): 4065-4070.
- [18] 中国针灸学会. 实验动物常用穴位名称与定位 第2部分: 大鼠[J]. *针刺研究*, 2021, 46(4): 351-352.
China Association of Acupuncture and Moxibustion. Nomenclature and location of commonly used acupoints in experimental animals. Part 2: rats (in Chinese) [J]. *Acupuncture Research*, 2021, 46(4): 351-352.
- [19] 丁光宏, 姚伟, 褚君浩, 等. 人体手臂部几个穴位与非穴位区红外辐射光谱特征[J]. *科学通报*, 2000, 45(23): 2530-2535.
DING G H, YAO W, CHU J H, et al. Infrared radiation spectrum characteristics of several acupoints and non-acupoints in human arm (in Chinese) [J]. *Chinese Science Bulletin*, 2000, 45(23): 2530-2535.
- [20] KRENN V, MORAWIETZ L, BURMESTER G R, et al. Synovitis score: discrimination between chronic low-grade and high-grade synovitis [J]. *Histopathology*, 2006, 49(4): 358-364.
- [21] 于世超, 郑建强. 基于文献分析探究针灸治疗膝关节炎性关节炎的选穴规律[J]. *中国中医药现代远程教育*, 2023, 21(20): 39-41.
YU S C, ZHENG J Q. Exploring the rule of selecting acupoints for acupuncture and moxibustion in the treatment of knee osteoarthritis based on literature analysis (in Chinese) [J]. *Chinese Medicine Modern Distance Education of China*, 2023, 21(20): 39-41.
- [22] 王瑞涵, 薛平聚, 邢海娇, 等. 针灸治疗膝骨性关节炎腧穴配伍规律的复杂网络分析[J]. *针刺研究*, 2022, 47(1): 65-70, 87.
WANG R H, XUE P J, XING H J, et al. Complex network analysis on regularities of acupoint combinations and application characteristics of acupuncture and moxibustion in the treatment of knee osteoarthritis (in Chinese) [J]. *Acupuncture Research*, 2022, 47(1): 65-70, 87.
- [23] 李军, 赵百孝. 灸材艾绒燃烧物理特性的研究现状与展望[J]. *中国中医基础医学杂志*, 2011, 17(11): 1292-1294.
LI J, ZHAO B X. Prospect and research status on physical properties of dry moxa combustion (in Chinese) [J]. *Chinese Journal of Basic Medicine in Traditional Chinese Medicine*, 2011, 17(11): 1292-1294.
- [24] 钟蓝. 传统艾灸作用机理初探[J]. *中国中医基础医学杂志*, 1999, 5(6): 46.
ZHONG L. Preliminary study on the mechanism of traditional moxibustion (in Chinese) [J]. *Chinese Journal of Basic Medicine in Additional Chinese Medicine*, 1999, 5(6): 46.
- [25] 邓海平, 雪勇, 丁光宏. 艾灸与经络穴位红外辐射特性[J]. *中国针灸*, 2004, 24(2): 105-107.
DENG H P, XUE Y, DING G H. Characteristics of infrared radiation of moxibustion and meridian-acupoints (in Chinese) [J]. *Chinese Acupuncture & Moxibustion*, 2004, 24(2): 105-107.
- [26] 丁光宏, 沈雪勇, 褚君浩, 等. 人体穴位与中医各种灸的红外辐射光谱特性[J]. *针刺研究*, 2002, 27(4): 269-273.
DING G H, SHEN X Y, CHU J H, et al. Observation on the characters of the infrared radiation spectrum of acupoints and four types of moxibustion in the human body (in Chinese) [J]. *Acupuncture Research*, 2002, 27(4): 269-273.
- [27] 胡静, 杨华元. 艾灸刺激物理信号的传导途径及其作用[J]. *中国针灸*, 2021, 41(5): 577-581.
HU J, YANG H Y. Conduction pathway and function of physical signals of moxibustion stimulus (in Chinese) [J]. *Chinese Acupuncture & Moxibustion*, 2021, 41(5): 577-581.
- [28] CATERINA M J, SCHUMACHER M A, TOMINAGA M, et al. The capsaicin receptor: a heat-activated ion channel in the pain pathway[J]. *Nature*, 1997, 389(6653): 816-824.
- [29] 汤家铭, 黄继汉, 杨旭明, 等. 电子温灸仪治疗膝骨关节炎的随机对照、非劣效性临床研究[J]. *上海中医药杂志*, 2019, 53(1): 57-61.
TANG J M, HUANG J H, YANG X M, et al. Treatment of knee arthritis by electronic moxibustion apparatus: a randomized, controlled, non-inferiority clinical trial (in Chinese) [J]. *Shanghai Journal of Traditional Chinese Medicine*, 2019, 53(1): 57-61.
- [30] PETRELLA M, SELISTRE L F A, SERRÃO P R M S, et al. Kinetics, kinematics, and knee muscle activation during sit to stand transition in unilateral and bilateral knee osteoarthritis [J]. *Gait Posture*, 2021, 86: 38-44.
- [31] 魏霞, 刘磊, 段文秀, 等. 艾灸对膝关节炎大鼠血浆氨基酸代谢的影响[J]. *针刺研究*, 2024, 49(8): 797-804.
WEI X, LIU L, DUAN W X, et al. Effect of moxibustion on plasma amino acid metabolism in rats with knee osteoarthritis (in Chinese) [J]. *Acupuncture Research*, 2024, 49(8): 797-804.
- [32] RITTER J, MENGER M, HERATH S C, et al. Translational evaluation of gait behavior in rodent models of arthritic disorders with the CatWalk device: a narrative review [J]. *Front Med*, 2023, 10: 1255215.
- [33] KHAN S J, KHAN S S, USMAN J, et al. Combined effects of knee brace, laterally wedged insoles, and toe-out gait on knee adduction moment and fall risk in moderate medial knee osteoarthritis patients [J]. *Prosthet Orthot Int*, 2019, 43(2): 148-157.
- [34] 陈世宣, 计静, 冯伟, 等. 风寒湿痹型膝骨关节炎患者膝部筋结点分布特征及独活寄生汤联合手法松解对其影响的研究[J]. *上海中医药杂志*, 2019, 53(2): 51-55.
CHEN S X, JI J, FENG W, et al. Distribution characteristics of knee nodal points and effect of Duhuo Jisheng Decoction combined with manipulation in patients with knee osteoarthritis of anemofrigid-damp arthralgia type (in Chinese) [J]. *Shanghai Journal of Traditional Chinese Medicine*, 2019, 53(2): 51-55.
- [35] NEOGI T, FREY-LAW L, SCHOLZ J, et al. Sensitivity and sensitisation in relation to pain severity in knee osteoarthritis: trait or state? [J]. *Ann Rheum Dis*, 2015, 74(4): 682-688.
- [36] NEOGI T, GUERMAZI A, ROEMER F, et al. Association of joint inflammation with pain sensitization in knee osteoarthritis: the multicenter osteoarthritis study [J]. *Arthritis Rheumatol*, 2016, 68(3): 654-661.